Jl S. Afr. Bot. 39 (3): 235–243 (1973)

# 'N EMBRIOLOGIESE ONDERSOEK VAN *ROMULEA ROSEA* ECKL. VAR. *REFLEXA* BEG.*

## 2. Die ontwikkeling van die endosperm, embrio en saadhuid.

E. Steyn

(*Departement Algemene Plantkunde, Universiteit van Pretoria*)

Uittreksel

In die saadknop van *Romulea rosea* Eckl. var. *reflexa* Beg. word nukleêre endosperm gevorm. 'n Endospermhaustorium vernietig die oorblywende chalazale nucellusweefsel. In die ryp saad is die endosperm horingagtig en ryk aan proteïene en olie. Die embrio-ontwikkeling stem ooreen met die Sagittaria-variasie van die Caryophyllaceae-tipe. Die saadhuid word oorwegend van die buitenste integument gevorm. Die resultate van die ondersoek word vergelyk met die van Ferraris (1902) en Béguinot (1907) wat *R. bulbocodium* en *R. columnae* ondersoek het. Die embriologie van *Romulea* en *Crocus* word ook vergelyk.

Abstract

THE EMBRYOLOGY OF *ROMULEA ROSEA* ECKL. VAR. *REFLEXA* BEG. 2. DEVELOPMENT OF THE ENDOSPERM, EMBRYO AND SEED COAT.

Nuclear endosperm is formed and a endosperm haustorium absorbs the remaining nucellar tissue. The ripe seed has a horny endosperm which contains protein and oil. The embryo in its development belongs to the *Sagittaria* variation of the Caryophyllaceae type. The seed coat is formed mainly by the outer integument.

The present results are being compared with those of Ferraris (1902) and Beguinot (1907) who have investigated *R. bulbocodium* and *R. columnae* and an embryological comparison of *Romulea* and *Crocus* is given.

### Inleiding

Die anatrope saadknop van *Romulea rosea* Eckl. var. *reflexa* Beg. het twee integumente waarvan die buitenste meerlagig is en die binneste die mikropielkanaal vorm. Die volwasse saadknop is tenuinucellaat omdat die monospore, agtkernige embriosak die nucelluskap van die jong saadknop vernietig. Onder die hipostase wat 'n pilaartjie vorm waarop die antipodes gedra word, is die chalazale nucellusweefsel nog aanwesig (Steyn, 1973).

Gedurende bevrugting word een sinergied deur die groeiende stuifmeelbuis vernietig. Die bevrugte eiersel lê langs die oorblywende sinergied, terwyl die sekondêre embriosakkern bokant die verdwynende antipodes aangetref word (Steyn, 1973).

Die bou en ontwikkeling van die saadknop van *R. rosea* var. *reflexa* stem in breë trekke ooreen met die van die twee Suid-Europese soorte, nl. *R. bulbocodium* en *R. columnae* wat deur Ferraris (1902) en Béguinot (1907) ondersoek is.

Accepted for publication 6th March, 1973.

* 'n Verkorte weergawe van 'n deel van 'n verhandeling goedgekeur vir die graad Magister in die Natuurwetenskappe aan die Universiteit van Stellenbosch.

## Materiaal en metodes

Soos in die vorige ondersoek is blomme, vrugte en sade in F.A.A. gefikseer, in was ingebed en mikrotoomsneë gemaak en gekleur met anilienblou en hematoksilien (Steyn, 1973).

## Ondersoek

*Vorming van die endospermweefsel.*

Tiperend van 'n groot, wye embriosak (1 000 μm × 500 μm) word nukleêre endosperm by *Romulea rosea* var. gevorm. 'n Groot aantal klein (8,5 μm) vrye kerne word egalig versprei in die wandstandige sitoplasma van die embriosak (fig. 8). Die sitoplasma konsentreer rondom die embrio waarin die buitenste selle reeds periklinaal deel, en rondom die hipostase waar die antipodes verdwyn het.

Wanneer die kerne ongeveer 30 μm uitmekaar is, word 'n tweede lagie kerne aan die vakuoolkant van die embriosak gevorm en selwande ontstaan nou tussen die delende kerne. Die jong, plat selle verleng hoofsaaklik radiaal en is dunwandig en gevakuoleerd. Die embriosak word in 'n middelpuntsoekende rigting laag vir laag opgevul met dunwandige selle.

Weens die vergroting van die saadknop, raak die buitenste selle radiaal gestrek en verdeel hoofsaaklik periklinaal om meer konsentriese lae endospermselle te vorm. Wanneer die saadknop sy maksimum grootte bereik het, verdik die selwande en kleur helderblou met anilienblou wat aandui dat kallose aanwesig mag wees (McLean & Ivimey-Cook, 1941). Schultze se oplossing of jodium en swawelsuur gee 'n rooibruin reaksie maar korallienoplossing (McLean & Ivimey-Cook, 1952) het geen uitwerking op die selwande nie.

In die ryp saad bevat die endosperm 'n ryk proteïen- en olie-inhoud. Die selkerne is nog sigbaar. Die selwande is horingagtig, baie verdik (fig. 10) en anisotroop.

*Ontwikkeling van die endospermhaustorium*

Na bevrugting vergroot die saadknop vinnig. Aan die begin van endospermvorming verdeel die selle van die binne-integument naby sy aanhegting aan die chalaza, regoor die hipostase. Lg. breek af aan sy basis en word weggestoot na die kant van die embriosak. Die buite-epidermisselle van die binne-integument regoor die verdwene hipostase verleng radiaal tot byna vyfmaal hul oorspronklike hoogte, sodat die binne-integument inbuig rondom die basis van die embriosak en 'n ringvormige vernouing hier vorm (fig. 1). Die oorblywende chalazale nucellusweefsel lê onderkant hierdie vernouing. Die onderpunt van die embriosak vorm nou 'n voet met 'n plat basis en verdikte wand.

Aan die embriosakkant van die voet konsentreer die sitoplasma en die endospermkerne is hier opvallend groot en ellipties of gelob, met twee tot

minstens tien nukleoli. Op geen stadium kan selwande in die poliploïede embriosakvoet onderskei word nie. Die endospermweefsel begin aan die bokant van die voet (fig. 1).

Hierdie struktuur word as 'n endospermhaustorium beskou wat die oorblywende nucellusweefsel vernietig totdat daar net drie tot vier platgedrukte sellae in die chalazale wyk oorbly. Wanneer die embriosak gevul is met dunwandige endospermweefsel, verdwyn die poliploïede kerne maar die sitoplasma bly oor en kleur baie donker (fig. 1).

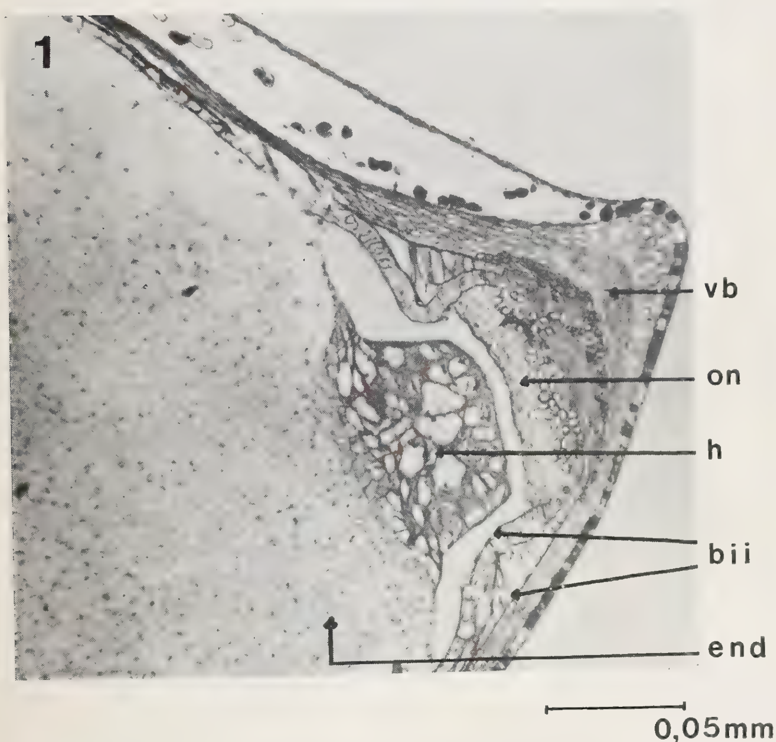



Fig. 1.
Foto van 'n lengtesnee deur die saad van *Romulea rosea* var. *reflexa* om die endospermhaustorium aan te toon: bii, binne-integument; end, endospermselle; h, haustorium; on, chalazale nucellusweefsel; vb, vaatbondel van die chalaza.

*Ontwikkeling van die embrio*

By *Romulea rosea* var. vind die eerste verdeling van die sigoot relatief vroeg plaas, wanneer daar nog maar min vrye endospermkerne gevorm is.

Twee ongelyke selle word deur 'n dwarsdeling van die sigoot gevorm: 'n groot, gevakuoleerde basale sel (cb in fig. 2), en 'n klein byna lensvormige, sitoplasmaryke apikale sel (ca in fig. 2). Die basale sel deel nie verder nie, maar vergroot om 'n eensellige, sakvormige struktuur te vorm. Sy basale wand lê styf teenaan die oorblyfsels van die sinergied in die omgewing van die mikropiel.

Die apikale sel deel dwars, sodat 'n lynvormige, driesellige pro-embrio ontstaan (fig. 3). Die terminale sel (c in fig. 3) ondergaan 'n lengtedeling (fig. 4). Dan volg 'n tweede lengtedeling, reghoekig op die eerste, sodat die boonste sellaag nou uit vier selle bestaan (fig. 6). Die tweede dogtersel (d in fig. 3) van die apikale sel het intussen dwars gedeel (fig. 5), sodat die pro-embrio nou uit drie gesuperponeerde sellae bestaan (uitgesonderd die basale sel). Die tweede sel (m in fig. 5) deel oorlangs om eers twee, dan vier selle te vorm (fig. 6). Die derde sel (ci in fig. 5) deel ook later oorlangs (fig. 6).

Gedurende selwandvorming in die endosperm is die embrio reeds goedontwikkeld en is die protoderm reeds gevorm (fig. 7).

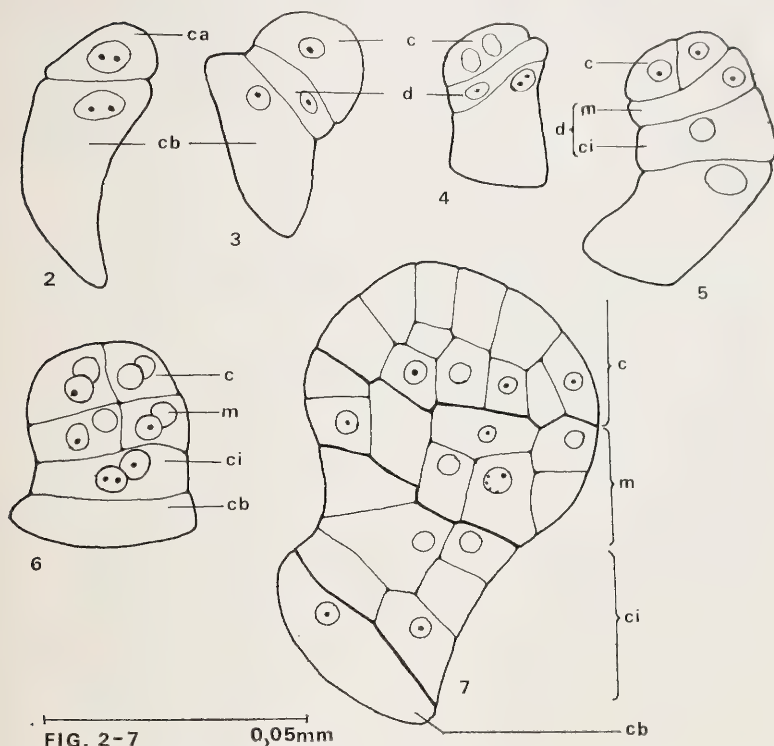
Die embrio-ontwikkeling van *R. rosea* var. *reflexa* stem ooreen met die van die *Sagittaria*-variasie van die Caryophyllaceae-tipe. Volgens Johansen (1950) vorm die boonste sellaag (c in fig. 6) die saadlob; die tweede sellaag (m in fig. 6) vorm die boonste deel van die hipokotiel en die stingelgroeipunt, terwyl die derivate van die derde sellaag (ci in fig. 6) die onderste deel van die hipokotiel, die inisiale selle van die wortelkorteks, die wortelmus en die ware suspensor vorm. Die basale sel (cb in fig. 6) het geen aandeel aan die vorming van die ware embrio nie, maar vorm die basale deel van die suspensor en heg die embrio vas aan die embriosakwand.

*Ontwikkeling van die saadhuid*

Die twee integumente van die saadknop is bedek en geskei van mekaar en van die endospermweefsel deur drie kutikulalae ($c_1$, $c_2$ & $c_3$ in fig. 8). Die buiteintegument is minstens vierlagig, terwyl die binne-integument tweelagig is (fig. 8).

Wanneer die eerste endospermkerne gevorm word, is die buite-epidermis (bu in fig. 8) van die buite-integument groot, reghoekige selle met verdikte buitewande en 'n donkerkleurende inhoud. Die sub-epidermale selle is klein, plat en dunwandig. Die selle van die binne-integument (bui en bi in fig. 8) is groot en reëlmatig.

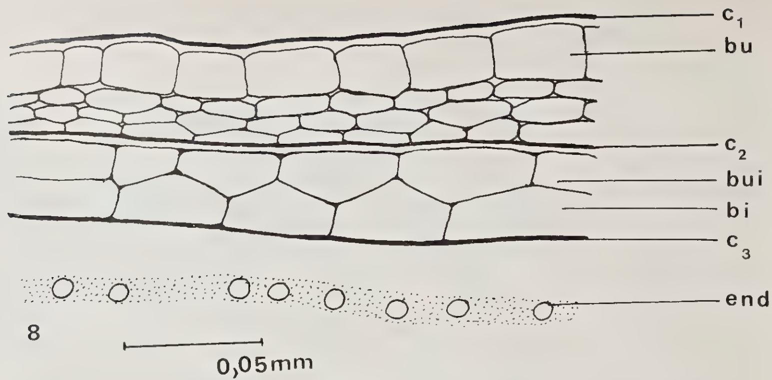
Wanneer die embriosak gevul is met dunwandige endospermweefsel, word die buite-epidermis van die binne-integument platgedruk en verdwyn, sodat net die kutikulalaag ($c_2$ in fig. 9) oorbly. Die buite-epidermisselwande van die

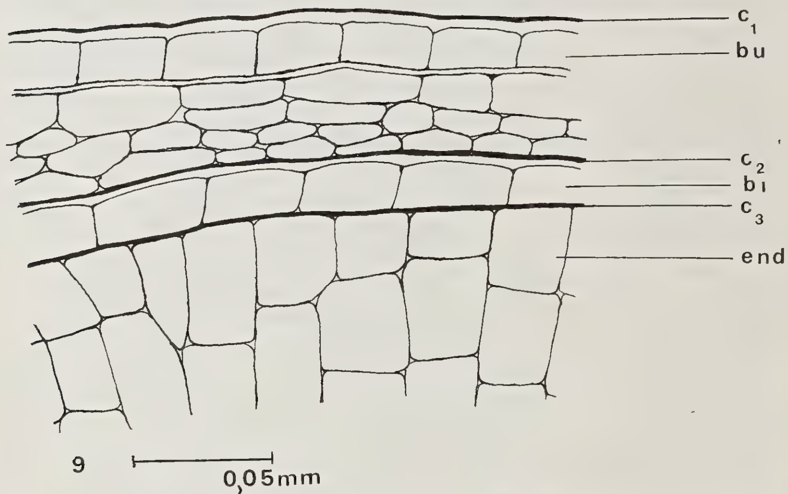


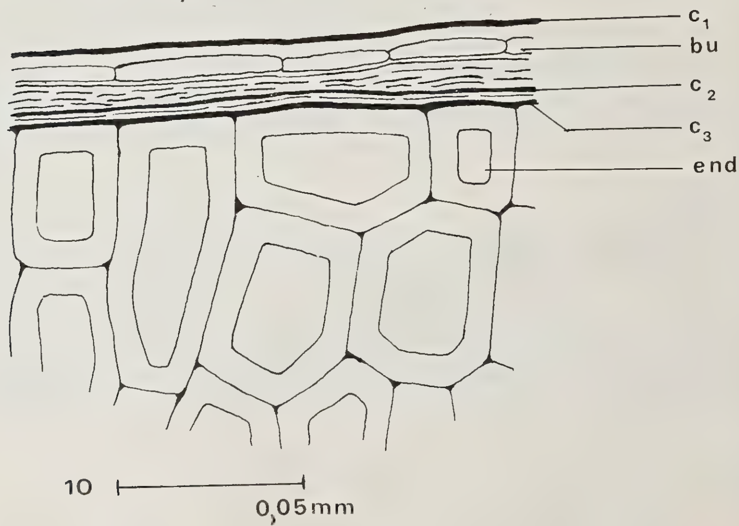

FIGS. 2–7.
Lengtesneë deur die ontwikkelende embrio van *Romulea rosea* var. *reflexa:* 2, dogterselle van die sigoot; 3, liniêre, driesellige pro-embrio; 4, lengtedeling van die apikale sel; 5, pro-embrio bestaande uit vier gesuperponeerde sellae; 6, lengtedelings in die derivate van die apikale sel; 7, embrio waarin protoderm reeds gevorm is; c, boonste dogtersel van apikale sel; ca, apikale sel; cb, basale sel; ci, tweede dogtersel van d; d, tweede dogtersel van apikale sel; m, eerste dogtersel van d.

buite-integument het merkbaar verdik. Die sub-epidermale selle het vergroot en bevat baie setmeelkorrels.

Namate die endospermselwande verdik (fig. 10), verdwyn die inhoud van die selle van die saadhuid. Die buite-epidermisselle (bu in fig. 10) het baie verdikte, gekutiniseerde wande en vorm die vernaamste beskermende laag van die saad. Die oorspronklike kutikulêre lae bly oor tussen die platgedrukte sellae (fig. 10).


c1
bu
c2
bui
bi
c3
end
8
0,05mm


c1
bu
c2
bi
c3
end
9
0,05mm


c1
bu
c2
c3
end
10
0,05mm

BESPREKING

Uit 'n vergelyking van die endosperm-, embrio- en saadhuidontwikkeling van *Romulea rosea* var. *reflexa* en die van die twee Suid-Europese spesies, blyk die volgende verskille:

1. Die embriosak van *R. bulbocodium* (Ferraris, 1902) is heelwat kleiner as die van *R. rosea* var. *reflexa* en die saadknop bevat na bevrugting geen nucellusweefsel nie. By lg. spesies word die chalazale nucellusweefsel eers betreklik laat deur die endospermhaustorium geresorbeer.
2. Geen endospermhaustorium is in die saadknoppe van die Suid-Europese *Romulea*-soorte gevind nie, terwyl die struktuur 'n opvallende kenmerk van die saadknop van *R. rosea* var. *reflexa* is.
3. Volgens Ferraris (1902) word gedurende embrio-ontwikkeling soms vier gesuperponeerde selle deur die verdeling van die apikale sel gevorm, terwyl die basale sel onverdeeld bly. By *R. rosea* var. *reflexa* word, behalwe die basale sel, net drie gesuperponeerde sellae gevorm. Die embrio-ontwikkeling van die twee Suid-Europese *Romulea*-soorte ressorteer dus ook onder die Caryophyllaceae-tipe, maar nie altyd onder die Sagittaria-variasie nie.
4. Die saadhuid-ontwikkeling van *R. rosea* var. *reflexa* en die twee Suid-Europese *Romulea*-spesies is waarskynlik dieselfde. Béguinot het egter die „interne epidermis in kontak met die endosperm" (d.i. die binne-epidermis van die binne-integument) as 'n vername beskermende laag beskou. Hy het waarskynlik net 'n tussen-stadium in die saadhuid-ontwikkeling ondersoek, want sy beskrywing van die saadhuidlae stem ooreen met figuur 9 van die huidige ondersoek. By *R. rosea* var. *reflexa* word hierdie laag later platgedruk en is die buite-epidermis van die buite-integument die vernaamste beskermende laag van die saad.

Soos die verskille in die bou en ontwikkeling van die saadknoppe van die ondersoekte Suid-Europese en Suid-Afrikaanse spesies (Steyn, 1973), is bg. verskille klein. Die embriologie verskaf dus geen bykomende leidrade om die ontwikkelingslyne binne die genus aan te dui nie. Embriologiese eienskappe kan egter van taksonomiese belang wees by die bepaling van groter taksa.

'n Vergelyking van die huidige resultate met bestaande literatuur oor die embriologie van die Iridaceae toon dat *Romulea* embriologies baie ooreenstem met *Crocus* (Haeckel, 1930 en Hofmeister, 1861). Pax (1888) het hierdie twee

---

FIGS. 8–10.

Lengtesneë deur die ontwikkelende saad van *Romulea rosea* var. *reflexa* om saadhuid- en endospermvorming aan te toon: 8, saadhuidlae gedurende vrye endospermkerndeling; 9, saadhuid waarvan die buite-epidermis van die binne-integument verdwyn het en die endosperm dunwandig is; 10, platgedrukte saadhuidlae en dikwandige endosperm; bi, binne-epidermis van binne-integument; bu, buite-epidermis van buite-integument; bui, buite-epidermis van binne-integument; $c_1$, buitenste kutikulalaag; $c_2$, middelste kutikulalaag; $c_3$, binnenste kutikulalaag; end, endosperm.

genera onder die Crocoideae geplaas. By beide genera word die nucelluskap voor bevrugting geresorbeer, sodat die sinergiedes wat dieselfde bou vertoon, tot in die mikropielkanaal strek. By die Iridoideae soos *Iris*, *Belamcanda*, *Libertia*, *Aristea* en *Tritonia* word tydens bevrugting nog 'n tweelagige nucelluskap aangetref en die sinergiedes is oor die algemeen kleiner (Haeckel, 1930). Die sekondêre embriosakkern word by beide *Crocus* en *Romulea* net bokant die antipodes aangetref, terwyl dit by *Gladiolus*, *Freesia* en *Ixia* dieper as die antipodes voorkom (Haeckel, 1930).

Die opvallendste en belangrikste embriologiese ooreenkoms tussen *Crocus* en *Romulea* is die bou en posisie van die antipodes. Lg. is groot, omgekeerd peervormige selle wat op 'n chalazale nucellus-pilaartjie gedra word. Hoewel die antipodes by die Ixioideae ook neig tot hipertrofie, word 'n nucelluspilaartjie nie aangetref nie. Dit ontbreek ook by die Iridoideae waar die antipodes klein bly.

Soos by die Suid-Europese *Romulea*-soorte kom by *Crocus* nie 'n endospermhaustorium voor nie, maar die endospermweefsel van die ryp saad is dikwandig (Hofmeister, 1861) soos die van *Romulea*. Volgens Netolitzky (1926) bevat hierdie sekondêre verdikte selwande dikwels amyloïed.

'n Belangrike verskil tussen *Crocus* en *Romulea* kom voor in die bou van die volwasse stuifmeelkorrels. Eg. het nie-aperturate of spiraal-aperturate stuifmeel (Erdtman, 1952), terwyl *Romulea* monosulkate stuifmeel het (Erdtman, 1952 en Steyn, ongepubliseerd). Na aanleiding hiervan het Heintze in 1927 (volgens Erdtman, 1952) voorgestel dat *Romulea* vanaf die Crocoideae na die Iridoideae oorgeplaas word. Aangesien die ander embriologiese kenmerke van *Romulea* en *Crocus* so 'n groot mate van ooreenstemming vertoon, kan so 'n oorplasing nie geregverdig word nie.

## Dankbetuigings

Die volgende persone en instansies word bedank vir hulle hulp en finansiële steun: Prof. P. G. Jordaan en die personeel van die Departement Botanie, Universiteit van Stellenbosch vir gewaardeerde belangstelling en hulp gedurende die studie; prof. M. P. de Vos onder wie se bekwame en inspirerende leiding gestudeer en gewerk is; prof. C. S. G. de Villiers vir die vertaling van Italiaanse literatuur; prof. H. P. van der Schijff wat die manuskrip deurgelees het; die W.N.N.R. vir die beskikbaarstelling van 'n nagraadse beurs en die Universiteit van Pretoria wat die publikasie van die artikel moontlik gemaak het.

## Literatuurverwysings

Béguinot, A., 1907. Revisione monographica del genere Romulea Maratti. *Malpighia* **21**: 397.

Erdtman, G., 1952. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Stockholm, Almquist & Wiksell.

Ferraris, I., 1902. Ricerche embriologiche sulle Iridacee. *Annuar. R. Ist. bot. Roma* **9**: 221–241.

HAECKEL, I., 1930. Über Iridaceae. *Flora* **125**: 1–82.

HOFMEISTER, W., 1861. Neue Beitrage zur Kenntniss der Embryobildung der Phanerogamen. 2: Monokotylen. *Abh. sächs. Akad. Wiss* **7**: 629–760.

JOHANSEN, D. A., 1950. Plant embryology. Embryology of the Spermatophyta. Waltham: Chronica Botanica Company.

MCLEAN, R. C. en IVIMEY-COOK, W. R., 1941. *Plant Science formulae*. London: MacMillan and Company.

MCLEAN, R. C. en IVIMEY-COOK, W. R., 1952. *Textbook of practical botany*. London: Green and Company.

NETOLITZKY, F., 1926. Anatomie der Angiospermen-Samen. *Handb. PflAnat*. **10**: 84.

PAX, F., 1888. Iridaceae. In: Engler, A & Prantl, K. Die Natürliche Pflanzenfamilien 2, 5. Leipzig: Wilhelm Engelman.

STEYN, E., 1973. 'n Embriologiese ondersoek van *Romulea rosea* Eckl. var. *reflexa* Beg. 1. Die bou, ontwikkeling en bevrugting van die saadknop. *Jl S. Afr. Bot*. **39** (2): 113–121.